

SESSION 2024

---

**AGRÉGATION**  
Concours interne et CAER

Section  
**BIOCHIMIE - GÉNIE BIOLOGIQUE**

**Première épreuve**

*L'épreuve prend appui sur un dossier technique relatif à un problème biotechnologique.*

Durée : 6 heures

---

L'usage du dictionnaire anglais-français est autorisé.

L'usage de la calculatrice est également autorisé.

L'usage de tout autre dictionnaire et matériel électronique est rigoureusement interdit.

Il appartient au candidat de vérifier qu'il a reçu un sujet complet et correspondant à l'épreuve à laquelle il se présente.

Si vous repérez ce qui vous semble être une erreur d'énoncé, vous devez le signaler très lisiblement sur votre copie, en proposer la correction et poursuivre l'épreuve en conséquence. De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, vous devez la (ou les) mentionner explicitement.

**NB : Conformément au principe d'anonymat, votre copie ne doit comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé consiste notamment en la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de la signer ou de l'identifier.**

**Le fait de rendre une copie blanche est éliminatoire.**

**Tournez la page S.V.P.**

## RECTIFICATIF

Au "2.2 Dimensionnement de certaines opérations unitaires", page 4, dans le tableau, ligne "Puissance de l'évaporateur": au lieu de " (kJ.s-1)", lire " (J.s-1)" (suppression du "k").

### INFORMATION AUX CANDIDATS

Vous trouverez ci-après les codes nécessaires vous permettant de compléter les rubriques figurant en en-tête de votre copie. Ces codes doivent être reportés sur chacune des copies que vous remettrez.

## AGRÉGATION INTERNE BIOCHIMIE – GÉNIE BIOLOGIE

► **Concours interne de l'Agrégation de l'enseignement public :**

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EAI	7100A	101	0809

► **Concours interne de l'Agrégation de l'enseignement privé :**

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EAH	7100A	101	0809





Cette épreuve prend appui sur un dossier technique relatif à un problème biotechnologique. Elle permet d'évaluer les capacités du candidat à :

- mobiliser ses connaissances scientifiques et technologiques pour expliciter ou valider les solutions retenues ;
- utiliser une ressource proposée pour élaborer un support pédagogique permettant la transmission ou l'évaluation de connaissances et méthodes par les élèves à un niveau de formation déterminé.

Le candidat doit situer l'exercice dans un processus d'apprentissage et par rapport aux autres enseignements scientifiques ou technologiques qui lui sont associés.

-----

Dans le sujet, les lettres **ST** identifient les questions mobilisant des compétences et connaissances scientifiques et technologiques, la lettre **P** identifie les questions d'ordre pédagogique.

Des extraits de référentiels et programmes sont regroupés en annexe en fin de sujet.

## **Les biotechnologies au service des performances sportives en vue des Jeux Olympiques Paris 2024 : l'exemple des maltodextrines**

L'activité sportive prolongée ou répétée nécessite la reconstitution rapide des stocks énergétiques nécessaires au fonctionnement des muscles. Ainsi, pour faciliter la récupération des sportifs pendant ou après l'effort, des aliments et des boissons ont été développés par l'industrie agro-alimentaire.

Des travaux pionniers, menés à l'Université de Floride dans les années 1960, ont conduit à l'élaboration d'une boisson énergétique contenant des électrolytes et des glucides. Depuis, ces boissons ont connu un essor parallèle au développement du sport professionnel et leur composition a évolué. La composition en glucides de ces boissons, généralement du dextrose, du fructose et des maltodextrines, est d'environ 6 à 8 % (m/V).

Les maltodextrines sont des oligomères issus de l'hydrolyse de l'amidon. Elles sont linéaires ou ramifiées et contiennent 6 à 20 molécules de glucose. Des processus industriels optimisés ont été mis en œuvre pour accroître la production des maltodextrines.

### **Partie 1 : Les maltodextrines, des constituants des boissons énergétiques**

Chez l'être humain, la perte de 2 % de l'eau relative à la masse corporelle entraîne une baisse d'environ 20 % de l'efficacité du travail musculaire pendant un effort. Lorsqu'elle atteint 10 %, un individu n'est plus capable de réaliser d'effort physique. La déshydratation liée à l'effort résulte de la perte d'eau et d'ions sodium par la sueur. Ainsi, pendant l'effort, une hyponatrémie peut apparaître lorsqu'un sportif boit de trop grandes quantités d'eau pauvre en sodium.

Pour ces raisons, le maintien d'une hydratation appropriée pendant et après l'effort physique est impératif pour les sportifs de haut niveau.

Les boissons énergétiques sont des boissons dites de l'effort. Elles sont soumises à la législation des compléments alimentaires encadrée par la directive 2002/46/CE du Parlement européen indiquant les compositions autorisées et les doses journalières maximales recommandées. Par la présence d'électrolytes et de glucides, leur formulation vise à limiter la déshydratation et la fatigue musculaire chez le sportif. Parce qu'elles ne contiennent jamais de caféine, elles ne sont pas classées parmi les boissons énergisantes.

Les boissons énergétiques sont caractérisées par :

- un goût supposé agréable : les qualités gustatives et la couleur de la boisson peuvent influencer les quantités bues pendant l'effort ;
- une absorption rapide pour favoriser l'effort en continu ;
- une capacité à maintenir le volume extracellulaire ;
- une bonne tolérance par le tube digestif pour éviter les troubles gastro-intestinaux nuisibles physiologiquement et psychologiquement.

Le **document 1** présente une étude descriptive de la composition de plusieurs types de boissons.

- ST1.** Montrer en quoi les boissons du groupe isotonique répondent le mieux à la définition d'une boisson énergétique.
- ST2.** Expliquer comment, lors d'un effort intense, la prise d'une boisson hypotonique peut conduire à l'apparition d'un œdème cellulaire, en particulier au niveau du cerveau.
- P1.** Proposer une activité technologique utilisant le contexte des boissons énergétiques pour faire appréhender aux élèves le concept d'osmose, en enseignement de BPH de 1<sup>ère</sup> ST2S. Préciser les prérequis, les capacités, les compétences disciplinaires et transversales travaillées, les moyens mis en œuvre et l'organisation spatio-temporelle.

Dans les boissons énergétiques, les maltodextrines sont le plus souvent mélangées à d'autres glucides. Le **document 2** présente des éléments permettant de comprendre l'intérêt d'ajouter du fructose plutôt que du glucose aux maltodextrines dans les boissons énergétiques.

- ST3.** Argumenter, dans le cadre d'un exercice d'endurance physique, l'intérêt physiologique d'ajouter du fructose, et non du glucose, aux boissons énergétiques contenant des maltodextrines.

## **Partie 2 : Éléments de maîtrise du processus de fabrication des maltodextrines**

Les principales étapes d'un processus industriel de fabrication des maltodextrines à partir d'amidon sont détaillées dans le **document 3**.

### **2.1. Étape de gélatinisation**

La gélatinisation de l'amidon, appelée aussi empesage (formation d'empois d'amidon) est un processus physico-chimique qui aboutit au gonflement et à la dispersion des molécules d'amidon dans l'eau à une température voisine de 65 °C.

- ST4.** Décrire les phénomènes physico-chimiques aboutissant au gonflement de l'amidon durant cette étape de gélatinisation. Argumenter l'intérêt de cette étape pour faciliter la digestion enzymatique.

### **2.2. Dimensionnement de certaines opérations unitaires**

Au cours de la conception des installations impliquant une élimination d'eau par traitement thermique, la prise en compte de la consommation énergétique est fondamentale. Le paramètre généralement utilisé dans cette démarche est la consommation énergétique spécifique (CES), c'est-à-dire l'énergie dépensée exprimée en kilojoules par kilogramme d'eau éliminée.

Le calcul de la CES est réalisé en établissant des bilans de matière. Ces derniers permettent de déterminer la composition chimique des flux de matière entrants et sortants à chaque étape.



Dans le contexte de la production de maltodextrines, on s'intéresse aux flux d'eau et de matière sèche.

Les paramètres enregistrés au niveau de l'évaporateur sont les suivants :

Solution de maltodextrines	Débit <sub>solution</sub> = 22 t·h <sup>-1</sup> Fraction massique de matière sèche <sub>solution</sub> = 13 %
Sirop de maltodextrines	Débit <sub>sirop</sub> = 7,5 t·h <sup>-1</sup> Fraction massique de matière sèche <sub>sirop</sub> = 38 %
Puissance de l'évaporateur	10 000 W (kJ·s <sup>-1</sup> )

« t » signifie « tonne »

**ST5.** Calculer, grâce à un bilan de matière, la capacité évaporatoire théorique (CET) de l'opération unitaire d'évaporation, exprimée en tonnes d'eau éliminée par heure (t·h<sup>-1</sup>). En déduire la CES.

Le diagramme enthalpique de Mollier présenté dans le **document 4** est un graphique décrivant certaines propriétés d'un gaz (ici l'air) : l'enthalpie, l'humidité relative, l'humidité absolue et la température à une densité et une pression données. Il est utile au dimensionnement des opérations unitaires de séchage comme l'atomisation.

La consommation énergétique spécifique (CES) peut également être déterminée en établissant le quotient de la variation d'enthalpie entre l'air ambiant et l'air entrant et de la variation d'humidité absolue entre l'air entrant et l'air sortant.

**ST6.** Expliciter cette méthode de calcul de la CES à l'aide du **document 3**. Calculer la CES de l'atomiseur à l'aide du diagramme enthalpique de Mollier présenté dans le **document 4**.

**ST7.** Argumenter l'intérêt de l'étape d'évaporation dans le processus de fabrication des maltodextrines, à l'aide des calculs réalisés et des documents fournis.

### 2.3. Critères microbiologiques du produit fini

Les maltodextrines présentes dans les boissons énergétiques peuvent également être utilisées en tant que matières premières dans la fabrication de laits dits « de suite » à destination des nourrissons.

Les industriels fabriquent donc des maltodextrines en respectant les critères microbiologiques de sécurité et d'hygiène identiques à ceux des préparations en poudre « de suite » destinées aux nourrissons.

Le **document 5** fournit des extraits du règlement (CE) 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires.

**ST8.** Extraire les critères microbiologiques obligatoires auxquels doivent répondre les maltodextrines. Préciser si ce sont des critères de sécurité ou d'hygiène.

Un extrait des résultats des contrôles microbiologiques réalisés sur le lot MD20230513 est donné ci-dessous :

Prélèvement n°	1	2	3	4	5
Nombre de bactéries de la famille des <i>Enterobacteriaceae</i> (ufc/10 g)	0	0	120	0	0

**ST9.** Identifier le type de plan de contrôle utilisé puis analyser les résultats et conclure.

#### 2.4. Amélioration de l'étape de digestion enzymatique lors de la production des maltodextrines

La digestion de l'amidon par l' $\alpha$ -amylase peut être améliorée en utilisant une enzyme immobilisée.

Le **document 6** présente quatre méthodes d'immobilisation de l' $\alpha$ -amylase mises en œuvre à partir de polymères d'aniline neutres appelés « Emeraldine base » (EB) ou de polymères d'aniline chargés appelés « Emeraldine Salt » (ES).

**ST10.** Présenter le principe de chacune des quatre méthodes d'immobilisation mises en œuvre.

Afin de suivre le processus d'immobilisation, trois grandeurs sont déterminées :

- le rendement d'immobilisation, en utilisant la masse d'enzyme présente avant et après immobilisation ;
- le rendement d'activité, en utilisant l'activité de l'enzyme avant et après immobilisation ;
- l'efficacité d'immobilisation, en effectuant le rapport des activités spécifiques avant et après immobilisation.

Le **document 7** présente les résultats obtenus.

**ST11.** Expliciter la signification des trois grandeurs : rendement d'immobilisation, rendement d'activité et efficacité d'immobilisation.

**ST12.** Établir les équations aux grandeurs permettant de calculer le rendement d'immobilisation, le rendement d'activité ainsi que l'efficacité d'immobilisation. Calculer ces grandeurs pour les quatre méthodes d'immobilisation.

**ST13.** Analyser les résultats obtenus pour comparer les quatre méthodes d'immobilisation en lien avec leur principe d'immobilisation.

Une autre voie d'amélioration de la production des maltodextrines consiste à produire des  $\alpha$ -amylases mutées, par mutagenèse dirigée du gène d'*Euplotes focardii* codant l' $\alpha$ -amylase.

Le **document 8A** présente un modèle de la structure tertiaire de l' $\alpha$ -amylase sauvage où sont indiqués les résidus d'acides aminés qui seront mutés. Le **tableau 8B** présente les paramètres cinétiques de l'enzyme sauvage et de trois enzymes mutantes produites.

**ST14.** Analyser l'effet des mutations sur les paramètres cinétiques et la stabilité de l' $\alpha$ -amylase.

**ST15.** Argumenter la position des résidus d'acides aminés mutés et les mutations choisies afin d'améliorer la stabilité et l'activité catalytique de l'enzyme étudiée.

La production des maltodextrines peut être utilisée comme contexte de projet technologique en terminale STL Biotechnologies (production et extraction de l' $\alpha$ -amylase, étude de la stabilité thermique des enzymes, suivi de bioconversion, analyse microbiologique du produit fini, ...). En amont de la mise en place du projet, un enseignant souhaite construire avec les élèves une fiche générique, utilisable pour chacune des manipulations et identifiant les points de vigilance à avoir depuis la planification des expériences jusqu'à l'analyse des résultats. Les objectifs de cette fiche sont, notamment, de permettre aux élèves de vérifier la faisabilité des manipulations proposées, l'obtention de résultats exploitables et l'analyse pertinente des résultats.

**P2.** Proposer, sur deux pages au maximum, une fiche qui pourrait être le résultat d'un travail réalisé avec les élèves.

### **Partie 3 : Maladies intestinales inflammatoires et maltodextrines**

Les maltodextrines (MDX), consommées en grande quantité, seraient susceptibles d'augmenter la probabilité d'apparition de maladies inflammatoires de l'intestin (MII) telles que la colite ulcéreuse et la maladie de Crohn.

Afin de vérifier cette hypothèse, des souris ont été exposées, sur une période de 45 jours, à des maltodextrines ou à d'autres polymères polaires et de grande taille, le propylène glycol (PG) (0,5 %) et la gélatine animale (GEL) ( $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), apportés dans l'eau de boisson.

Une étude identique est réalisée sur un lot de souris préalablement traitées au Sulfate de Sodium Dextran (DSS) (1,75 %). Le DSS est utilisé expérimentalement pour induire des dommages épithéliaux précoces et une inflammation du colon. Les résultats de ces études sont présentés dans le **document 9**.

**ST16.** Exploiter les données du **document 9** pour en déduire l'effet des maltodextrines dans le cadre des maladies inflammatoires de l'intestin.

L'épithélium intestinal est tapissé de mucus composé notamment de la glycoprotéine Mucine-2 (Muc-2) pouvant subir des modifications post-traductionnelles de type O-glycosylation.

L'extrait d'une étude de l'effet des maltodextrines sur le mucus intestinal est présenté dans le **document 10**.

**ST17.** Schématiser les édifices moléculaires obtenus lors du marquage des coupes de côlon.

**ST18.** Proposer un témoin de spécificité de l'anticorps anti-Muc-2.

**ST19.** Expliquer le rôle des réactifs suivants : bovine serum albumin 1 %, Tween 0,1 % et DAPI.

**ST20.** Interpréter les résultats présentés dans le **document 10** et conclure.

La maladie de Crohn est associée à une dysbiose intestinale mise en évidence par un microbiome altéré formant des biofilms épais sur l'épithélium. La composition et les caractéristiques du microbiome seraient influencées par des facteurs environnementaux, notamment la consommation de maltodextrines.

Dans le cadre du BTS biotechnologies, un enseignant souhaite mettre en place une manipulation permettant de mimer l'effet de différentes boissons sur le microbiote intestinal. Afin de développer l'esprit critique des étudiants, il souhaite, dans un second temps, réaliser une analyse critique du modèle expérimental proposé.

**P3.** Proposer un plan de manipulation (conditions opératoires et techniques mises en œuvre) permettant de mimer l'effet de différentes boissons sur le microbiote intestinal. Préciser le matériel, les réactifs et les souches utilisés. Le protocole n'est pas à détailler. Réaliser l'analyse critique du modèle expérimental proposé.

## Document 1 : Caractéristiques de différentes boissons commerciales

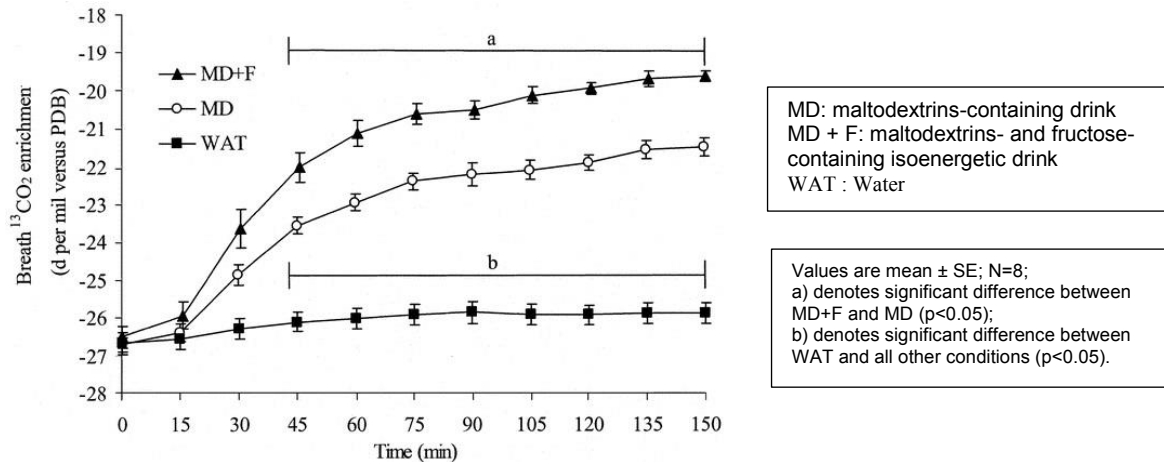
Adapté de Sutehall et al., *Current Sports Medicine*, 2018

Type of beverages	Composition	Osmolality mean (mOsm·kg <sup>-1</sup> water)
Mineral waters of low mineralization	High CO <sub>2</sub> saturation; total mineral content 311.5 mg·L <sup>-1</sup>	28
	High CO <sub>2</sub> saturation; total mineral content 285.8 mg·L <sup>-1</sup>	20
	High CO <sub>2</sub> saturation; total mineral content 322.2 mg·L <sup>-1</sup>	28
	CO <sub>2</sub> unsaturated; total mineral content 420.0 mg·L <sup>-1</sup>	20
Mineral waters of medium mineralization	CO <sub>2</sub> unsaturated; total mineral content 714.0 mg·L <sup>-1</sup>	75
	High CO <sub>2</sub> saturation; total mineral content 508.6 mg·L <sup>-1</sup>	44
	CO <sub>2</sub> unsaturated; total mineral content 942.9 mg·L <sup>-1</sup>	54
	CO <sub>2</sub> unsaturated; total mineral content 946.51 mg·L <sup>-1</sup>	58
Mineral waters of high mineralization	CO <sub>2</sub> unsaturated; total mineral content 5525.3 mg·L <sup>-1</sup>	119
	CO <sub>2</sub> medium saturated; total mineral content 1890.7 mg·L <sup>-1</sup>	75
	CO <sub>2</sub> unsaturated; total mineral content 1547.5 mg·L <sup>-1</sup>	69
	CO <sub>2</sub> unsaturated; total mineral content 2087.8 mg·L <sup>-1</sup>	88
Isotonic drinks	Lemon flavoured; total mineral content 62.1 mg/100 mL; carbohydrate content 6.7%	279
	Orange flavoured; total mineral content 64.4 mg/100 mL; carbohydrate content 5.6%	304
	Lemon flavoured; total mineral content 120 mg/100 mL; carbohydrate content 5.7%	294
	Citrus fruit flavoured; total mineral content 141.6 mg/100 mL; carbohydrate content 5.7%	281
Energizing drinks	Containing taurine (0.4%), caffeine (0.03%), inositol, vitamins (niacin, pantothenic acid, B6, B12); carbohydrate content 11%	567
	Containing: caffeine, guarana extract (0.02%); carbohydrate content 11%	484
	Containing: taurine (0.4%), caffeine (0.03%), vitamins (niacin, pantothenic acid, B6, B12), inositol, glucuronolactone; carbohydrate content 11.3%	645
	Containing: taurine (0.4%), glucuronolactone (0.2%), caffeine (0.03%), inositol (0.02%), vitamins (niacin, pantothenic acid, B6, B12); carbohydrate content 11.3%	784
Juices & nectars	Blackcurrant flavoured nectar with blackcurrant juice concentrate (25%)	624
	Orange flavoured juice with orange juice concentrate	577
	Multivitamin juice from concentrates and purees (20%) from: apples 11.9%, oranges 5.5%, grapes, pineapples, lemons, apricots, bananas, guava, mango, peaches, grapefruits and limes	626
	Orange flavoured juice with orange juice concentrate	716
'Light' drinks	Pepsi 'light'; sweeteners: aspartame, acesulfame K	34
	Coca-Cola 'light', sweeteners: cyclamates, acesulfame K, aspartame	29
	Grapefruit-orange flavoured drinks containing juice concentrates of: grapefruit (20%), oranges (5%), and sweeteners: saccharin sodium, sucralose and acesulfame K	28
	Pineapple-grapefruit flavoured drinks containing juice concentrates of: pineapple (17%), grapefruit (8%), and sweeteners: saccharin sodium, sucralose and acesulfame K	32
Other sparkling drinks	Pepsi, containing sugar (11%), carbon dioxide, acid (phosphoric acid) and caffeine	492
	Coca-Cola, containing sugar (10.6%), carbon dioxide, phosphoric acid and caffeine	632
	Sprite, containing sugar (10.6%) glucose-fructose syrup, carbon dioxide, citric acid, sodium citrate and malic acid	556
	Orangeade, containing sugar (8.6%) and/or glucose/fructose syrup, carbon dioxide, citric acid and black carrot concentrate	551

## Document 2 : Influence de l'ajout de fructose dans les boissons énergétiques contenant des maltodextrines

### 2A : Breath $^{13}\text{CO}_2$ enrichment during exercise with ingestion of either maltodextrin and fructose (MD+F), maltodextrin (MD), or plain water (WAT)

Adapté de Maltais et al., *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2005

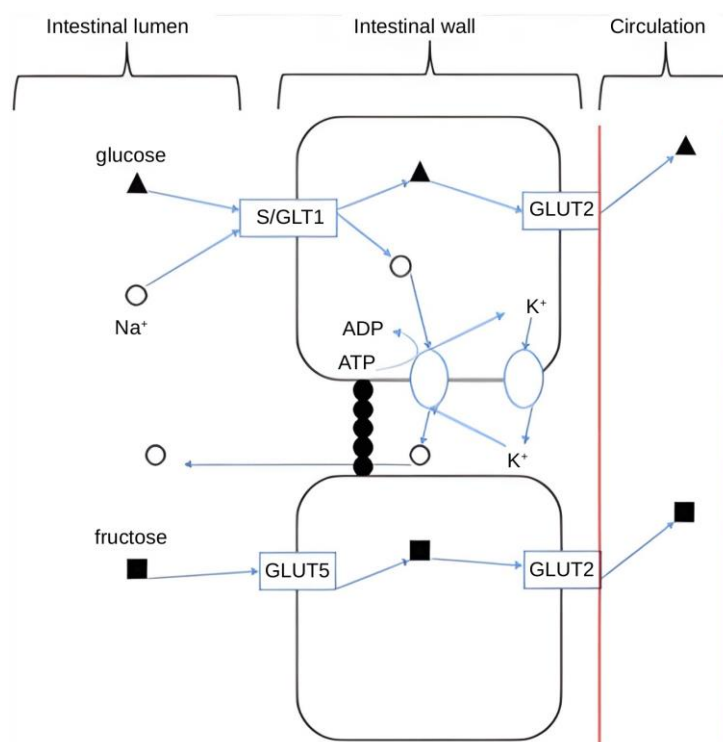


To quantify exogenous carbohydrates oxidation, corn-derived MD and F were used which have a high natural abundance of  $^{13}\text{C}$ . Breath  $^{13}\text{C}$ -enrichment was measured by determining  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratio in the expired air.

NB: "MD + glucose" condition would have led to a similar breath  $^{13}\text{CO}_2$  enrichment compared to MD condition.

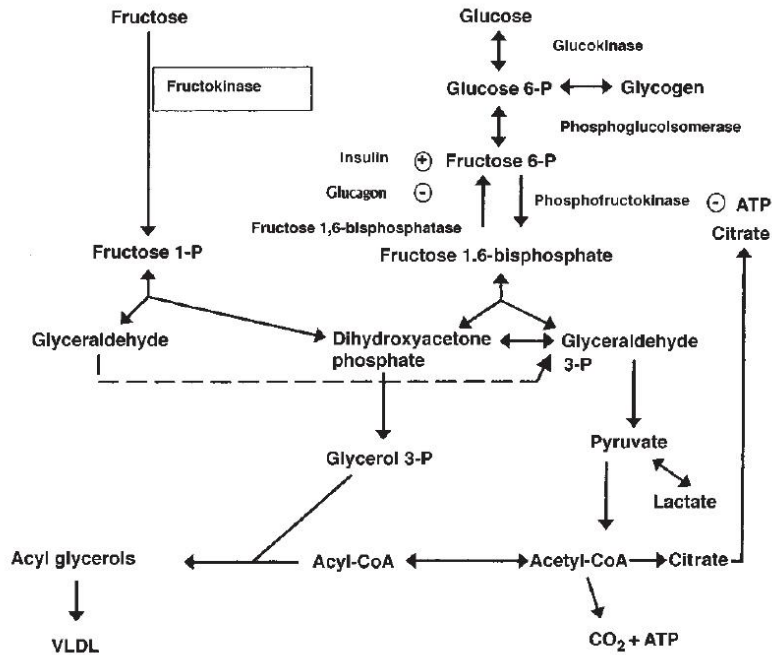
### 2B : Transport of glucose and fructose from the intestinal lumen to the circulation

Adapté de Sutehall et al., *Current Sports Medicine Reports*, 2018



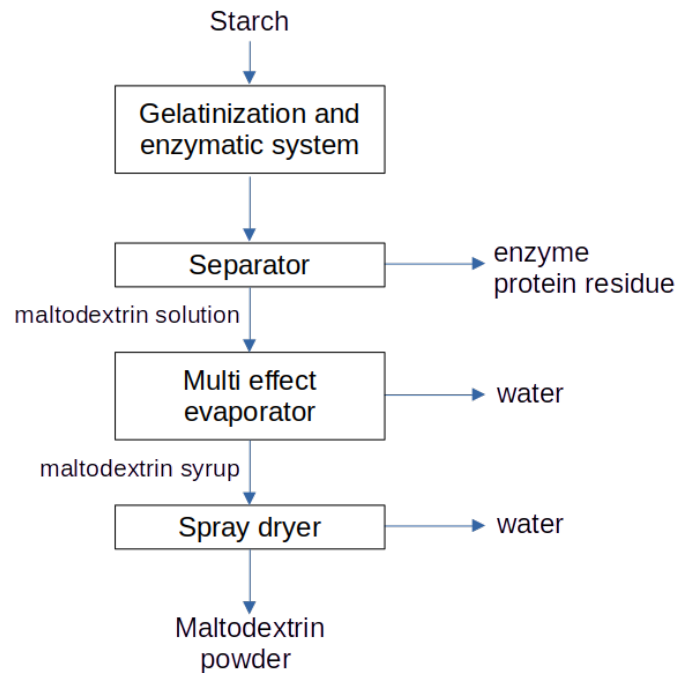
## 2C : Présentation d'une partie des voies métaboliques hépatiques impliquant le fructose et le glucose

Adapté de Planet-Vie



## Document 3 : Processus industriel de transformation de l'amidon en maltodextrines

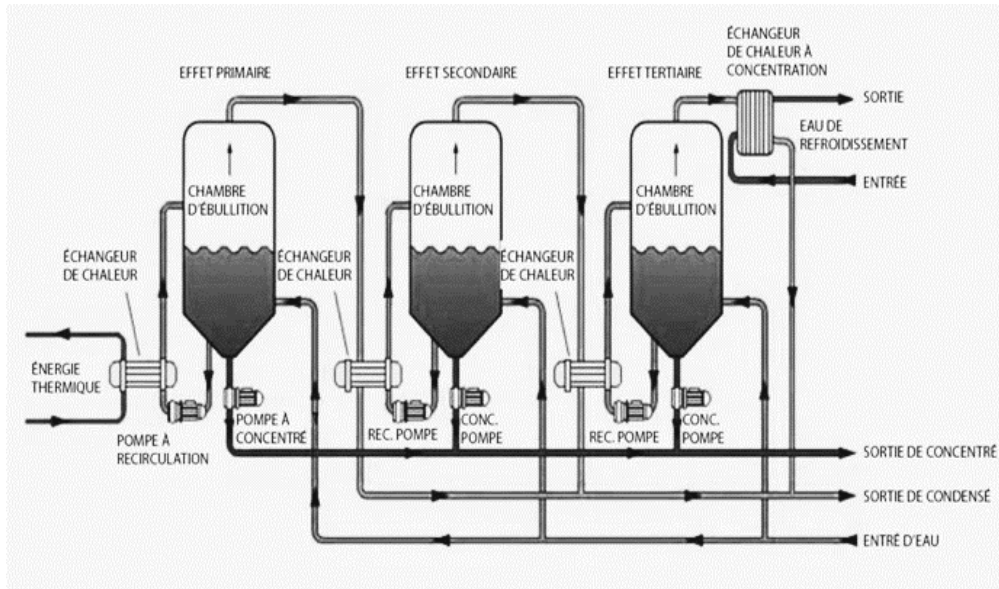
### 3A : Diagramme de fabrication



### 3B : Évaporateur multi-effet

Les évaporateurs sont des installations industrielles permettant de concentrer un produit liquide par élimination d'eau par voie thermique et par ébullition.

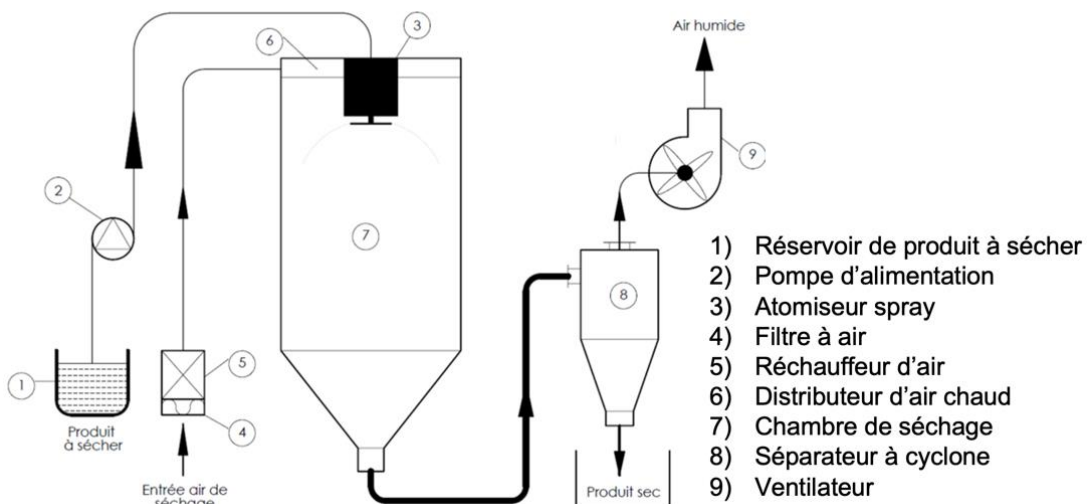
On appelle « évaporateur multiple-effet » un ensemble d'évaporateurs dans lequel la vapeur (de solvant) générée dans un évaporateur (i) est réutilisée comme vapeur de chauffage dans l'évaporateur suivant (i+1). Seul le premier évaporateur est chauffé à l'aide de vapeur vive (primaire). Ce principe de fonctionnement est obtenu en décalant les pressions de chacun des évaporateurs de façon à obtenir, dans l'évaporateur (i), une vapeur se condensant à une température supérieure à la température d'ébullition de l'évaporateur (i+1).



### 3C : Atomiseur sécheur ou atomiseur / spray dryer

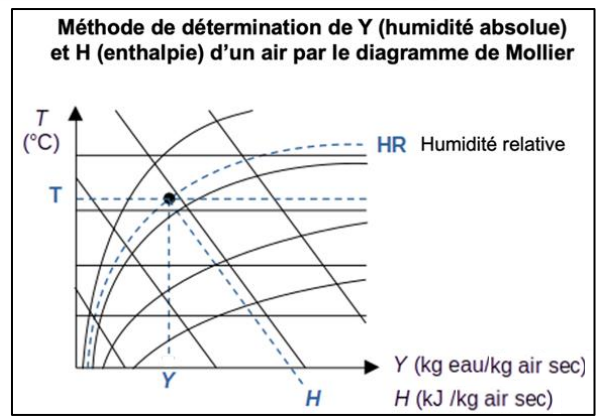
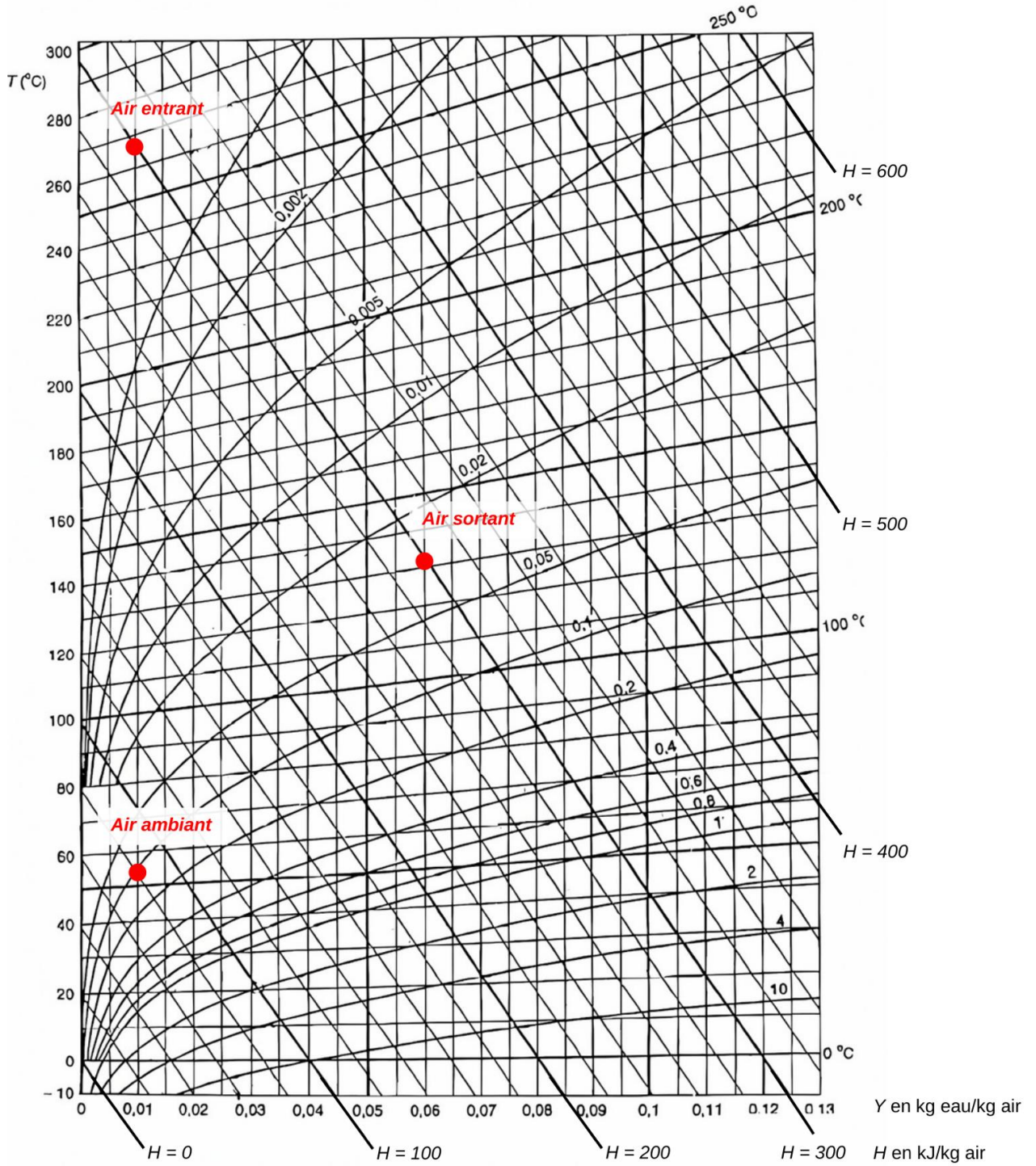
Les atomiseurs sécheurs sont des installations industrielles transformant un produit liquide en un produit solide (poudre) par élimination d'eau par voie thermique et par entraînement. Lors du séchage par atomisation, afin d'évaporer l'eau, le liquide est pulvérisé en gouttelettes au moyen d'un pulvérisateur à disque tournant dans une enceinte cylindrique verticale au contact d'un courant d'air chaud. Les gouttelettes sont alors transformées en une poudre sèche avant de tomber sur les parois inférieures du cylindre. La séparation de la poudre et de l'air humide se fait ensuite dans des cyclones.

Au cours de cette opération unitaire, l'air ambiant est chauffé pour devenir l'air entrant qui se charge en humidité et se refroidit au contact des gouttelettes de produit et devient l'air sortant.





# Document 4 : Diagramme enthalpique de l'air humide de Mollier



## **Document 5 : Article 3 et extraits de l'annexe I du règlement (CE) 2073/2005 du 15 novembre 2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires**

Les lettres M et C précédées du signe ► indiquent des modifications et corrections apportées au fil du temps ayant permis d'aboutir à la version consolidée du règlement, c'est-à-dire applicable à un moment donné.

### *Article 3*

#### **Exigences générales**

1. Les exploitants du secteur alimentaire veillent à ce que les denrées alimentaires respectent les critères microbiologiques pertinents établis à l'annexe I. À cette fin, à tous les stades de la production, de la transformation et de la distribution de denrées alimentaires, y compris la vente au détail, ils prennent des mesures, dans le cadre de leurs procédures fondées sur les principes HACCP ainsi que de leurs bonnes pratiques d'hygiène, afin que:

- a) la fourniture, la manipulation et la transformation de matières premières et de denrées alimentaires relevant de leur contrôle s'effectuent de façon à ce que les critères d'hygiène des procédés soient respectés;
- b) les critères de sécurité des denrées alimentaires applicables pendant toute la durée de conservation des produits soient respectés dans des conditions de distribution, d'entreposage et d'utilisation raisonnablement prévisibles.

2. Le cas échéant, les exploitants du secteur alimentaire responsables de la fabrication du produit conduisent des études conformément à l'annexe II afin d'examiner si les critères sont respectés pendant toute la durée de conservation. Cette disposition s'applique notamment aux denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de *Listeria monocytogenes* et susceptibles de présenter un risque pour la santé publique lié à *Listeria monocytogenes*.

Les entreprises du secteur alimentaire peuvent coopérer à la conduite des études susmentionnées.

Des lignes directrices pour la conduite de ces études peuvent être intégrées dans les guides de bonnes pratiques visés à l'article 7 du règlement (CE) n° 852/2004.

## Document 5 (suite)

### Annexe I du règlement (CE) 2073/2005

#### Chapitre I Critères de sécurité des denrées alimentaires

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/toxines, métabolites	Plan d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.1 Denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées aux nourrissons et denrées alimentaires prêtes à être consommées destinées à des fins médicales spéciales (4)	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	► <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g		EN/ISO 11290-1	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.2 ► <b>C4</b> Denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales ◀	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g (5)		EN/ISO 11290-2 (6)	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.3 ► <b>C4</b> Denrées alimentaires prêtes à être consommées ne permettant pas le développement de <i>L. monocytogenes</i> , autres que celles destinées aux nourrissons ou à des fins médicales spéciales ◀ (4) (8)	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	► <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g (7)		EN/ISO 11290-1	Avant que la denrée alimentaire n'ait quitté le contrôle immédiat de l'exploitant du secteur alimentaire qui l'a fabriquée
1.4 Viande hachée et préparations de viande destinées à être consommées crues	<i>Salmonella</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2 (6)	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.5 Viande hachée et préparations de viande de volailles destinées à être consommées cuites	<i>Salmonella</i>	5	0	► <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g		► <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.6 Viande hachée et préparations de viande d'autres espèces que les volailles destinées à être consommées cuites	<i>Salmonella</i>	5	0	► <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 10 g		► <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.7 Viandes séparées mécaniquement (9)	<i>Salmonella</i>	5	0	► <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 10 g		► <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

▼ **M2**

▼ **M1**

**Document 5 (suite)**  
**Annexe I du règlement (CE) 2073/2005**

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/toxines, métabolites	Plan d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.8 Produits à base de viande destinés à être consommés crus, excepté les produits dont le procédé de fabrication ou la composition permettent de supprimer le risque salmonelles	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.9 Produits à base de viande de volaille destinés à être consommés cuits	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.10 Gélatine et collagène	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.11 Fromages, beurre et crème fabriqués à partir de lait cru ou de lait traité à une température inférieure à celle de la pasteurisation (10)	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.12 Lait en poudre et lactosérum en poudre	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.13 Crèmes glacées (11), excepté les produits dont le procédé de fabrication ou la composition permettent de supprimer le risque salmonelles	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.14 Ovoproduits, excepté les produits dont le procédé de fabrication ou la composition permettent de supprimer le risque salmonelles	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.15 Denrées alimentaires prêtes à être consommées contenant des œufs crus, excepté les produits dont le procédé de fabrication ou la composition permettent de supprimer le risque salmonelles	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g ou ml		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.16 Crustacés et mollusques cuits	<i>Salmonella</i>	5	0	► <u>M9</u> Non détecté ◄ dans 25 g		► <u>M9</u> EN ISO 6579-1 ◄	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

▼ M1

▼ M2

▼ M1

**Document 5 (suite)**  
**Annexe I du règlement (CE) 2073/2005**

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes/toxines, métabolites	Plan d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère
		n	c	m	M		
1.17 Mollusques bivalves vivants et échinodermes, tuniciers et gastéropodes vivants	<i>Salmonella</i>	5	0	▶ <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g		▶ <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.18 Graines germées (prêtes à être consommées) ▶ <b>M4</b> (25) ◀	<i>Salmonella</i>	5	0	▶ <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g		▶ <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.19 Fruits et légumes prédécoupés (prêts à être consommés)	<i>Salmonella</i>	5	0	▶ <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g		▶ <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.20 ▶ <b>M9</b> Jus de fruits et de légumes non pasteurisés (24) (prêts à être consommés) ◀	<i>Salmonella</i>	5	0	▶ <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g		▶ <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.21 Fromages, lait en poudre et lactosérum en poudre, visés dans les critères staphylocoques à coagulase positive au chapitre 2.2 de la présente annexe	Entérotoxines staphylocoques	5	0	Pas de détection dans 25 g		▶ <b>M9</b> EN ISO 19020 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.22 Préparations en poudre pour nourrissons et aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois	<i>Salmonella</i>	30	0	▶ <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g		▶ <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.23 Préparations de suite en poudre	<i>Salmonella</i>	30	0	▶ <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 25 g		▶ <b>M9</b> EN ISO 6579-1 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.24 Préparations en poudre pour nourrissons et aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois (14)	<i>Cronobacter</i> spp. ▶ <b>M9</b> _____ ◀	30	0	▶ <b>M9</b> Non détecté ◀ dans 10 g		▶ <b>M9</b> EN ISO 22964 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.25 Mollusques bivalves vivants et échinodermes, tuniciers et gastéropodes marins vivants	<i>E. coli</i> (15)	5 (16)	1	230 NPP/100 g de chair et de liquide intravalvaire	700 NPP/100 g de chair et de liquide intravalvaire	EN/ISO 16649-3	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
1.26 Produits de la pêche fabriqués à partir d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histidine (17)	Histamine	9 (18)	2	100 mg/kg	200 mg/kg	▶ <b>M9</b> EN ISO 19343 ◀	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

▼ **M1**

▼ **M2**

▼ **M7**

▼ **M1**

# Document 5 (suite)

## Annexe I du règlement (CE) 2073/2005

▼ M1

- (f) Ce critère est applicable lorsque le fabricant est en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation. L'exploitant peut fixer, pendant le procédé, des valeurs intermédiaires suffisamment basses pour garantir que la limite de 100 ufc ne sera pas dépassée au terme de la durée de conservation.
- (g) 1 ml d'inoculum est déposé sur une boîte de Petri d'un diamètre de 140 mm ou sur trois boîtes de Petri d'un diamètre de 90 mm.
- (l) ►C4 Ce critère est applicable aux produits avant qu'ils ne quittent le contrôle immédiat de l'exploitant du secteur alimentaire, lorsque celui-ci n'est pas en mesure de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 ufc/g pendant toute la durée de conservation. ▼
- (m) Les produits pour lesquels  $pH \leq 4,4$  ou  $a_w \leq 0,92$ , les produits pour lesquels  $pH \leq 5,0$  et  $a_w \leq 0,94$ , les produits à durée de conservation inférieure à 5 jours appartiennent automatiquement à cette catégorie. D'autres genres de produits peuvent aussi appartenir à cette catégorie, sous réserve d'une justification scientifique.
- (n) Ce critère est applicable aux viandes séparées mécaniquement produites par les techniques visées au chapitre III, paragraphe 3, de la section V de l'annexe III du règlement (CE) n° 853/2004 du Parlement européen et du Conseil.

(10) Excepté les produits pour lesquels le fabricant peut démontrer, à la satisfaction des autorités compétentes, qu'en raison du temps d'affinage et de la valeur  $a_w$  du produit le cas échéant, il n'y a aucun risque de contamination par les salmonelles.

(11) Uniquement les crèmes glacées contenant des ingrédients laitiers.

► M4 ——— ▼

► M9 ——— ▼

(14) Des essais en parallèle seront réalisés pour les *Enterobacteriaceae* et ► M9 *Cronobacter* spp. ▼, sauf si une corrélation entre ces micro-organismes a été établie au niveau d'une usine. Si des *Enterobacteriaceae* sont détectés dans un échantillon du produit analysé dans cette usine, le lot doit être analysé pour ► M9 *Cronobacter* spp. ▼ Il appartiendra au fabricant de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, s'il existe une telle corrélation entre *Enterobacteriaceae* et ► M9 *Cronobacter* spp. ▼

(15) *E. coli* est utilisée ici comme indicateur de contamination fécale.

► M7 (16) Chaque unité d'échantillon comprend un nombre minimal d'animaux différents conformément à la norme EN/ISO 6887-3. ▼

(17) En particulier les espèces de poissons des familles *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae*, *Scombrososidae*.

► M5 (18) Des échantillons uniques peuvent être prélevés au niveau de la vente au détail. En pareil cas, la présomption établie par l'article 14, paragraphe 6, du règlement (CE) n° 178/2002, en vertu de laquelle tout le lot doit être considéré comme dangereux, n'est pas applicable, sauf si le résultat est supérieur à *M*. ▼

► M9 ——— ▼

► M3 (20) Ce critère est applicable aux viandes fraîches provenant de cheptels reproducteurs de *Gallus gallus*, de poules pondeuses, de poulets de chair, de cheptels reproducteurs de dindes et de cheptels de dindes d'engraissement.

(21) Pour ce qui est des souches monophasiques de *Salmonella typhimurium*, seules celles dont la formule antigénique est ► C5 1,4,[5],12:i:- ▼ sont visées. ▼

► M4 (22) Compte tenu de la dernière adaptation par le laboratoire de référence de l'Union européenne concernant *Escherichia coli*, y compris *E. coli* vérotoxigène (VTEC), pour la détection de STEC O104:H4

(23) À l'exclusion des germes qui ont subi un traitement efficace pour éliminer *Salmonella* spp et STEC ▼

► M9 (24) Le terme «non pasteurisés» signifie que le jus n'a pas fait l'objet d'une pasteurisation obtenue par une combinaison de temps et de température ou d'autres procédés validés pour atteindre un effet bactéricide équivalent à la pasteurisation en ce qui concerne son effet sur *Salmonella*. ▼

▼ M1

(1)  $n$  = nombre d'unités constituant l'échantillon;  $c$  = nombre d'unités d'échantillonnage donnant des valeurs comprises entre  $m$  et  $M$ .

► M5 (7) Pour les points 1.1 à 1.25, 1.27 bis et 1.28,  $m = M$ . ▼

(8) Il y a lieu d'utiliser l'édition la plus récente de la norme.

(9) Des essais périodiques fondés sur ce critère ne sont pas utiles, en temps normal, pour les denrées alimentaires ► C4 prêtes à être consommées ▼ suivantes:

— denrées alimentaires ayant fait l'objet d'un traitement thermique ou d'une autre transformation efficace pour éliminer *L. monocytogenes*, lorsque la recontamination n'est pas possible après ce traitement (par exemple, les produits traités thermiquement dans leur emballage final),

— fruits et légumes frais, non découpés et non transformés, ► M9 ——— ▼

— pain, biscuits et produits similaires,

— eaux, boissons non alcoolisées, bière, cidre, vin, boissons spiritueuses en bouteille ou conditionnés et produits similaires,

— sucre, miel et confiserie, y compris les produits à base de cacao et de chocolat,

— mollusques bivalves vivants,

► M2 — sel de qualité alimentaire. ▼

## Document 5 (suite)

### Annexe I du règlement (CE) 2073/2005

#### Chapitre 2 Critères d'hygiène des procédés

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes	Plan d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère	Action en cas de résultats insatisfaisants
		n	c	m	M			
2.2.6 ► <b>C4</b> Beurre et crème au lait cru ou lait ayant subi un traitement thermique plus faible que la pasteurisation ▼	<i>E. coli</i> (5)	5	2	10 ufc/g	100 ufc/g	ISO 16649-1 ou 2	Fin du procédé de fabrication	Améliorations de l'hygiène de la production et de la sélection des matières premières
2.2.7 Lait en poudre et lactosérum en poudre (4)	► <b>C4</b> Enterobacteriaceae ▼	5	0	10 ufc/g		► <b>M9</b> EN ISO 21528-2 ▼	Fin du procédé de fabrication	Contrôle de l'efficacité du traitement thermique et prévention de la recontamination
	Staphylocoques à coagulase positive	5	2	10 ufc/g	100 ufc/g	EN/ISO 6888-1 ou 2	Fin du procédé de fabrication	► <b>C4</b> Améliorations de l'hygiène de production. Lorsque des valeurs > 10 <sup>5</sup> ufc/g sont détectées, le lot doit faire l'objet d'une recherche des entérotoxines staphylococciques ▼
2.2.8 Crèmes glacées (6) et desserts lactés congelés	► <b>C4</b> Enterobacteriaceae ▼	5	2	10 ufc/g	100 ufc/g	► <b>M9</b> EN ISO 21528-2 ▼	Fin du procédé de fabrication	Améliorations de l'hygiène de production
2.2.9 Préparations en poudre pour nourrissons et aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois	► <b>C4</b> Enterobacteriaceae ▼	10	0	► <b>M9</b> Non détecté ▼ dans 10 g		► <b>M9</b> EN ISO 21528-1 ▼	Fin du procédé de fabrication	Améliorations de l'hygiène de production afin de réduire au minimum la contamination (7).
2.2.10 Préparations de suite en poudre	► <b>C4</b> Enterobacteriaceae ▼	5	0	► <b>M9</b> Non détecté ▼ dans 10 g		► <b>M9</b> EN ISO 21528-1 ▼	Fin du procédé de fabrication	Améliorations de l'hygiène de production afin de réduire au minimum la contamination.

# Document 5 (suite)

## Annexe I du règlement (CE) 2073/2005

Catégorie de denrées alimentaires	Micro-organismes	Plan d'échantillonnage (1)		Limites (2)		Méthode d'analyse de référence (3)	Stade d'application du critère	Action en cas de résultats insatisfaisants
		n	c	m	M			
2.2.11 Préparations en poudre pour nourrissons et aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois	Présomption de <i>Bacillus cereus</i>	5	1	50 ufc/g	500 ufc/g	EN/ISO 7932 (10)	Fin du procédé de fabrication	Améliorations de l'hygiène de production. Prévention de la recontamination. Sélection des matières premières.

(1) n = nombre d'unités constituant l'échantillon; c = nombre d'unités d'échantillonnage donnant des valeurs comprises entre m et M

► **M2** (2) Pour les points 2.2.1, 2.2.7, 2.2.9 et 2.2.10 m = M. ◀

(3) Il convient d'utiliser l'édition la plus récente de la norme.

(4) Ce critère ne s'applique pas aux produits destinés à être encore transformés dans le secteur alimentaire.

(5) *E. coli* est utilisée ici comme indicateur du niveau d'hygiène.

(6) Pour les fromages ne pouvant pas favoriser le développement de *E. Coli*, le nombre de *E. Coli* est généralement le plus élevé au début de la période d'affinage, et pour les fromages pouvant favoriser le développement de *E. Coli*, il l'est en principe à la fin de la période d'affinage.

(7) À l'exception des fromages pour lesquels le fabricant peut démontrer, à la satisfaction des autorités compétentes, qu'ils ne présentent aucun risque de contamination par entérotoxines staphylococciques.

(8) Uniquement les crèmes glacées contenant des ingrédients lactés.

(9) Des essais en parallèle seront réalisés pour les *Enterobacteriaceae* et ► **M9** *Cronobacter* spp. ◀, sauf si une corrélation entre ces micro-organismes a été établie au niveau d'une usine. Si des *Enterobacteriaceae* sont détectées dans un échantillon du produit analysé dans cette usine, le lot doit être analysé pour ► **M9** *Cronobacter* spp. ◀ Il appartiendra au fabricant de démontrer, à la satisfaction de l'autorité compétente, s'il existe une telle corrélation entre *Enterobacteriaceae* et ► **M9** *Cronobacter* spp. ◀

(10) 1 ml d'inoculum est déposé sur une boîte de Petri d'un diamètre de 140 mm ou sur trois boîtes de Petri d'un diamètre de 90 mm.

### ▼ M1

#### Interprétation des résultats des analyses

Les limites indiquées s'appliquent à chaque unité d'échantillon analysée.

Les résultats des analyses révèlent la qualité microbiologique du procédé contrôlé.

► **C4** Enterobacteriaceae ◀ dans les préparations en poudre pour nourrissons, les aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois et les préparations de suite en poudre:

— qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées indiquent l'absence de la bactérie,

— ► **C4** qualité insatisfaisante ◀ lorsque la présence de la bactérie est détectée dans une unité de l'échantillon.

*E. coli*, ► **C4** Enterobacteriaceae ◀ (autres catégories de denrées alimentaires) et staphylocoques à coagulase positive:

— qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées sont  $\leq m$ ,

— qualité acceptable lorsqu'un maximum de c/n valeurs se situe entre m et M, et que le reste des valeurs observées est  $\leq m$ ,

— ► **C4** qualité insatisfaisante ◀ lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont  $> M$  ou lorsque plus de c/n valeurs se situent entre m et M.

Présomption de *Bacillus cereus* dans les préparations en poudre pour nourrissons et les aliments diététiques en poudre destinés à des fins médicales spéciales pour nourrissons de moins de six mois

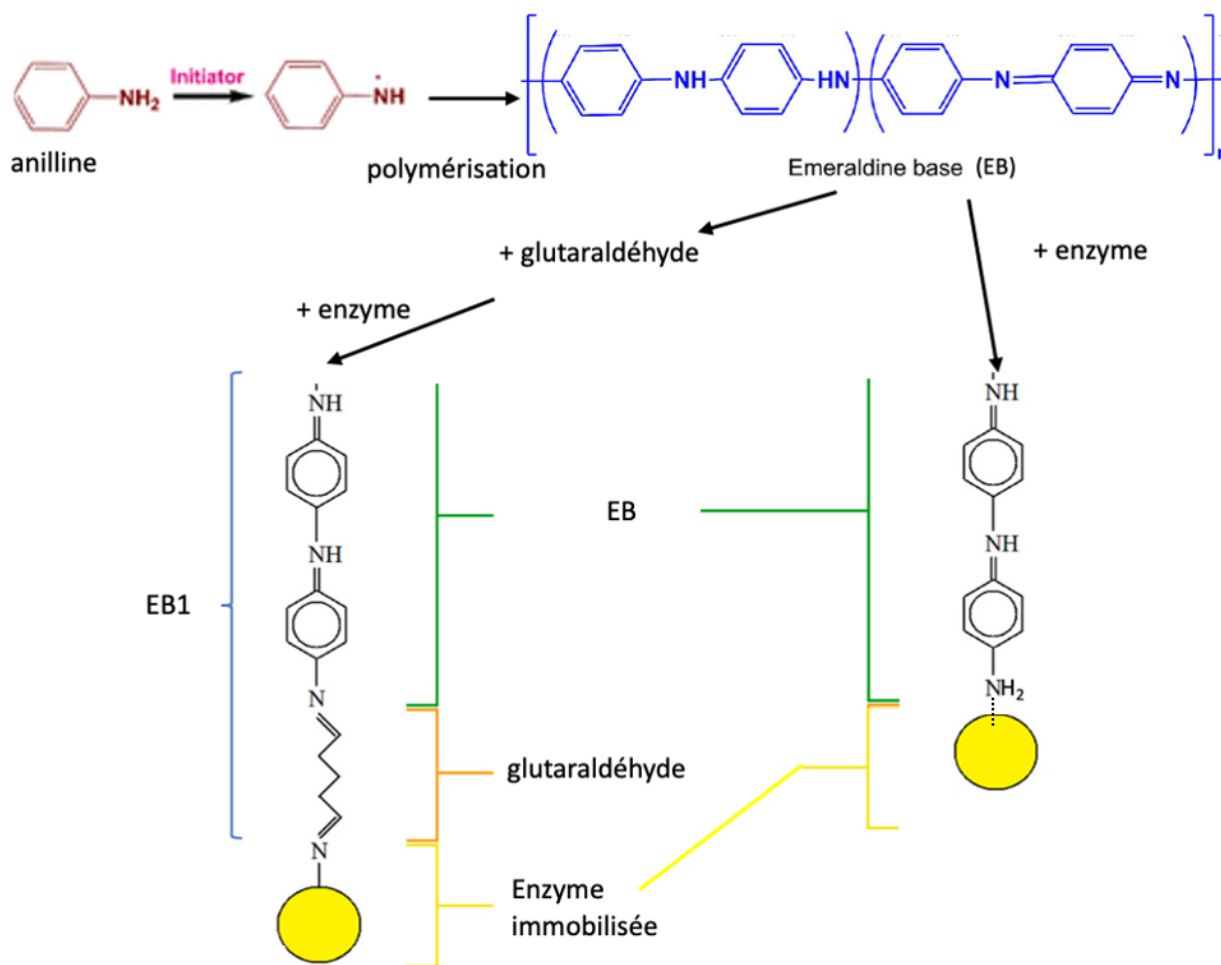
— qualité satisfaisante lorsque toutes les valeurs observées sont  $\leq m$ ,

— qualité acceptable lorsqu'un maximum de c/n valeurs se situe entre m et M, et que le reste des valeurs observées est  $\leq m$ ,

— ► **C4** qualité insatisfaisante ◀ lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont  $> M$  ou lorsque plus de c/n valeurs se situent entre m et M.



## Document 6 : Production des polyanilines EB, ES, EB1 et ES1 et immobilisation de l'enzyme



Pour obtenir ES et ES1, EB et EB1 sont respectivement protonés.

## Document 7 : Dosage des protéines et de l'activité $\alpha$ -amylase au cours des différentes « méthodes d'immobilisation » mises en œuvre à partir de ES, ES1, EB et EB1

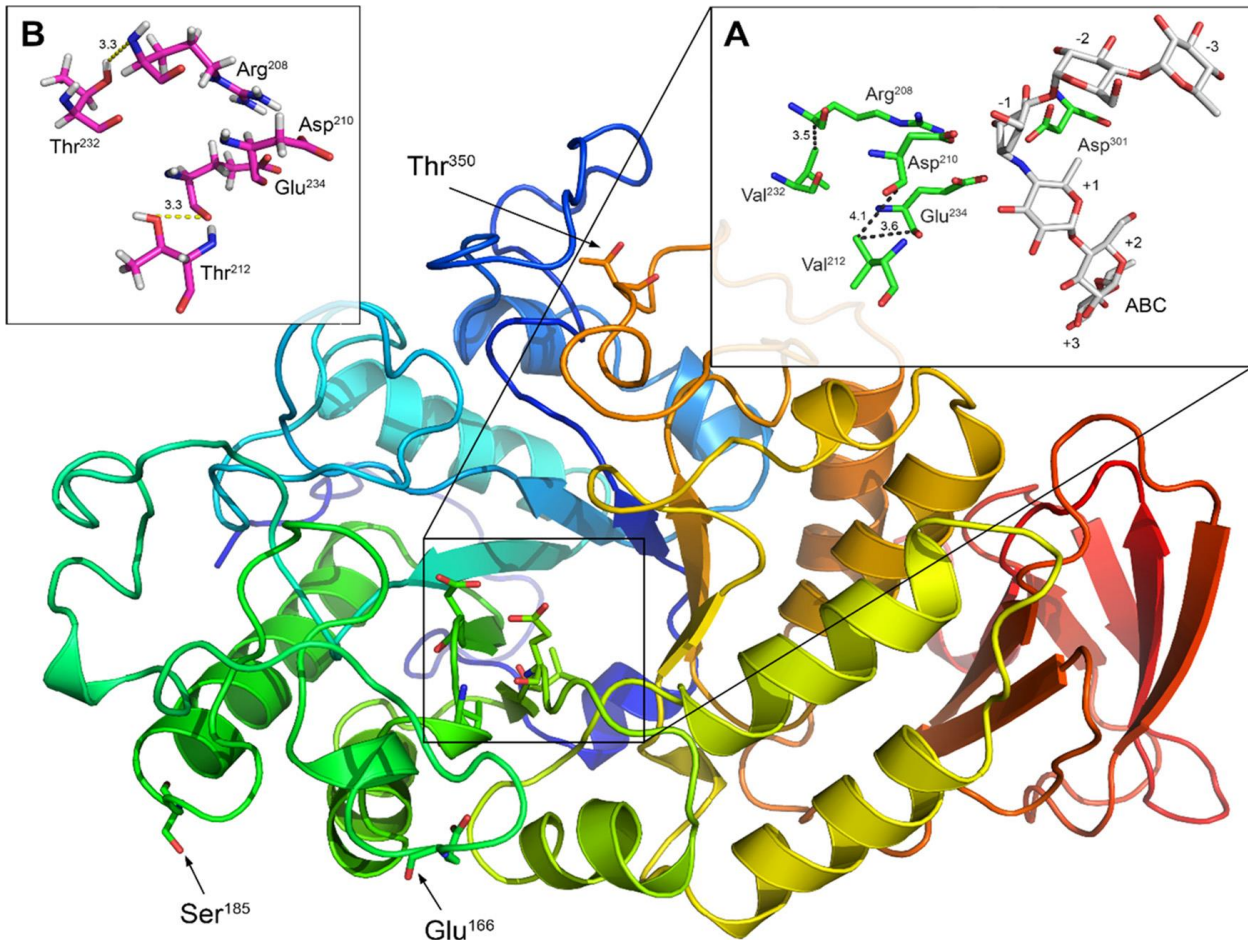
Adapté de Ashly et al., Food chemistry, 2011

« Méthodes d'immobilisation »	ES	ES1	EB	EB1
Masse d'enzyme utilisée pour l'immobilisation ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de polymère)	2,1	3,1	3,1	3,1
Masse d'enzyme présente dans le surnageant après immobilisation ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de polymère)	0,6	0,9	0,9	1,2
Activité amylase totale utilisée pour l'immobilisation ( $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ polymère)	16,3	24,6	24,6	24,6
Activité amylase immobilisée totale ( $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ polymère)	3,8	9,2	4,5	6,4

## Document 8 : Mutagenèse dirigée du gène codant l'α-amylase

Adapté de Yang et al., *Applied and Environmental Microbiology*, 2017

### 8A : Modèle d'homologie basse résolution de l'α-amylase sauvage



Les résidus d'acides aminés de cette α-amylase qui ont été choisis pour la mutation en proline sont indiqués par une flèche noire. (A) Dyade catalytique (Glu<sup>234</sup> et Asp<sup>210</sup>). Les interactions non polaires réalisables sont indiquées par des lignes pointillées et leurs longueurs en Angström sont rapportées. (B) Même région que celle montrée dans le panneau A mais portant les mutations V212T et V232T. Les liaisons hydrogène les plus susceptibles de se former sont indiquées par des lignes pointillées avec leurs longueurs en Angström.

## 8B : Paramètres cinétiques et stabilité des $\alpha$ -amylases sauvage et mutantes

Enzyme ou mutants	$k_{cat}$ ( $s^{-1}$ )	$K_M$ ( $g \cdot L^{-1}$ )	$k_{cat}/K_M$ ( $g \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (min)
Enzyme sauvage	983	4,43	222	4,1
V212T/V232T	1039	2,01	517	4,6
S185P/E166P/T350P	1304	3,76	347	5,3
V212T/V232T/S185P/E166P/T350P	1332	1,67	798	5,7

### Matériel et méthodes :

Les réactions ont été réalisées en ajoutant comme substrat 0,1 mL de solution d'amidon à des concentrations variant de 0,5 à 8  $g \cdot L^{-1}$  à 0,1 mL d'une solution enzymatique à la concentration de 0,4  $mg \cdot mL^{-1}$  dans du tampon Tris-HCl 0,1  $mmol \cdot L^{-1}$  (pH = 9,0). Les vitesses initiales de réaction ont été mesurées à 35 °C.

L'activité  $\alpha$ -amylase a été quantifiée en ajoutant 0,1 mL de réactif iodé (0,5 % KI et 0,05 %  $I_2$ ) à la solution. Après le développement de la couleur, l'absorbance de la solution a été mesurée à 580 nm.

Une unité d'activité  $\alpha$ -amylase est définie comme la disparition de 1 mg d'amidon liant l'iode par minute dans la réaction de dosage.

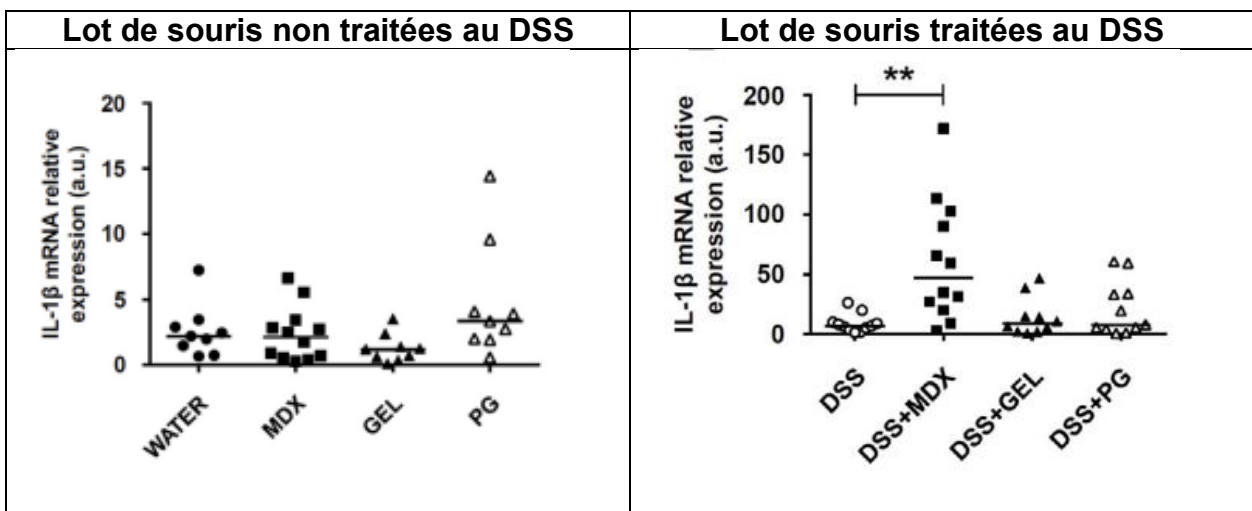
## Document 9 : Effet des maltodextrines sur l'inflammation intestinale

Adapté de Laudisi et al, *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2019

L'expression du gène de l'interleukine 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) est quantifiée par PCR en temps réel dans des tissus coliques prélevés sur des souris sacrifiées à l'âge de 45 jours. Les données sont générées en utilisant 9 à 12 souris par groupe à l'aide de 3 expériences indépendantes. Chaque point du graphique indique l'expression d'ARN du transcrite spécifique dans le côlon d'une souris.

### Données :

- Les astérisques \*\* signifient que les résultats sont significativement différents.
- Les barres horizontales indiquent la valeur médiane obtenue.



## Document 10 : Effet des maltodextrines sur l'expression de la protéine Muc-2

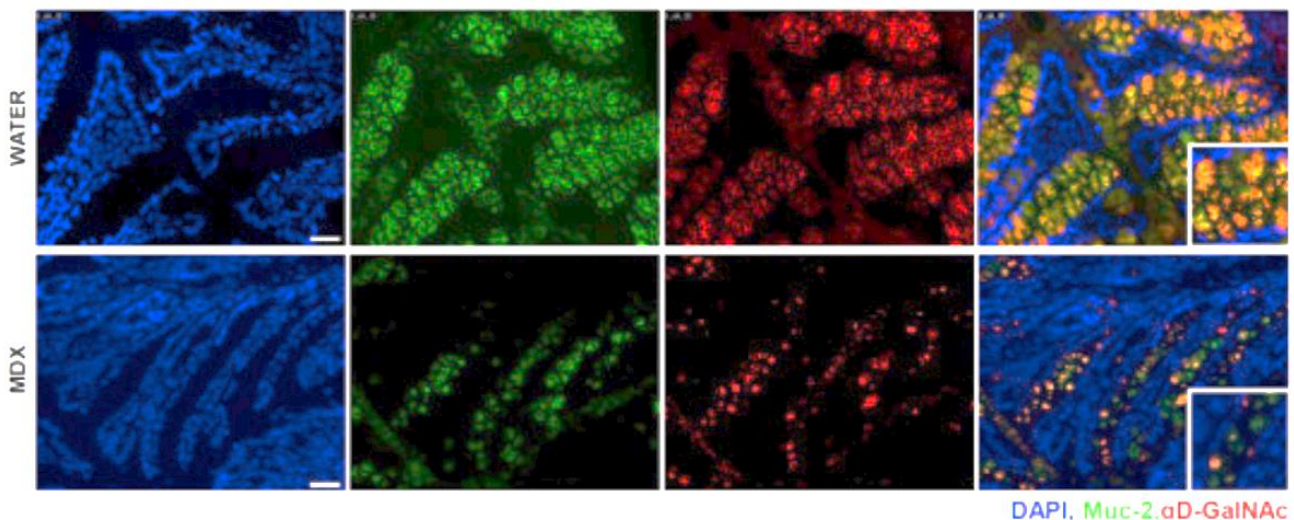
*Adapté de Laudisi et al, Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology, 2019*

Analyse par immunofluorescence de la protéine Muc-2 (vert) et de sa forme glycosylée mature (rouge) sur des coupes de côlon isolé à partir de souris ayant reçu ou non dans leur eau de boisson 5 % des maltodextrines pendant 35 jours.

### Method:

Cryosections of colon were placed in methanol-Carnoy's fixative solution (60% methanol, 30% chloroform, 10% glacial acetic acid) for 2 hours at room temperature for Muc-2 detection. Sections then were washed in PBS 1 time and permeabilized with 0.1% Triton X-100 for 20 minutes. Blocking procedure (bovine serum albumin 1%, Tween 0.1%, glycine 2%) was performed for 1 hour at room temperature and rabbit primary antibody against Muc-2 and O-linked sugar residues (lectin-biotin conjugated) were incubated overnight at 4°C. After washing with PBS 1 time, the secondary antibody (goat anti-rabbit green Fluo linked) and streptavidin (Red Fluo linked) were applied for 2 hours at room temperature. Slides were washed with PBS 1 time and mounted using "Prolong gold antifade reagent" with 4',6-diamidino-2-phenylindole and analyzed by microscopy.

Nuclei were stained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blue).



## Annexe

### Extrait du programme de biologie et physiologie humaines de première ST2S

#### Compétences visées

La formation en biologie et physiopathologie humaines repose sur une approche technologique alliant une démarche expérimentale et une analyse du fonctionnement normal et pathologique de l'individu. Cette pédagogie permet de :

- construire une démarche d'analyse ;
- développer esprit critique et raisonnement scientifique ;
- conforter et renforcer les capacités d'expression écrite et orale ;
- acquérir un vocabulaire scientifique et médical et le mobiliser ;
- appréhender le fonctionnement de l'organisme humain dans son environnement, échangeant matière et information ;
- comprendre les mécanismes d'apparition de pathologies majeures et aborder des éléments de leur diagnostic et de leurs traitements.

Notions et contenus	Capacités exigibles <i>Activités technologiques supports de la formation</i>
<b>Nutrition et équilibre alimentaire</b> Composition des aliments Notion de nutriments	Différencier aliments et nutriments. Classer les nutriments en macronutriments et micronutriments, en molécules organiques et minérales. Associer protides, glucides, lipides, vitamines et minéraux à leurs rôles principaux : énergétiques, structuraux, fonctionnels. Distinguer parmi les biomolécules polymères, dimères et monomères.
Équilibre alimentaire  Absorption des nutriments et de l'eau	Exposer l'importance de l'eau dans l'organisme. <i>Étude expérimentale de la composition d'un aliment à l'aide de tests d'identification.</i> Distinguer les notions de besoins quantitatifs et qualitatifs. Identifier des facteurs de variations des besoins quantitatifs et qualitatifs. Établir un bilan énergétique à partir des dépenses et des apports. Relier les caractéristiques structurales de la muqueuse intestinale à sa fonction d'absorption. Expliquer l'absorption de l'eau par osmose. Présenter les voies d'absorption sanguine et lymphatique. Relier les voies d'absorption aux propriétés hydrophobes ou d'hydrophiles des nutriments. <i>Réalisation d'expériences de dialyse. Observations microscopiques.</i>

## Extrait programme du programme de Biochimie biologie et biotechnologies

Les savoir-faire, attitudes et concepts essentiels permettant de « travailler ensemble au laboratoire » font l'objet de la partie L. Ils contribuent en particulier à la mise en œuvre du projet technologique accompagné qui, conduit par des groupes de 3 ou 4 élèves, vise à :

- pratiquer une démarche de projet ;
- pratiquer une démarche de prévention des risques au laboratoire ;
- obtenir des résultats de mesure fiables ;
- mobiliser les outils numériques en biotechnologies.

### Objectifs de formation

L'enseignement de biochimie-biologie-biotechnologies de la classe terminale vise, par la mobilisation systématique de savoirs et savoir-faire, l'approfondissement des concepts fondamentaux déjà abordés en première STL et l'acquisition de nouveaux concepts. De plus, il développe et approfondit des compétences directement liées au laboratoire de biotechnologies où sont réalisées les activités technologiques expérimentales.

Les objectifs de cet enseignement sont les suivants :

- stimuler la curiosité et l'intérêt dans différents domaines scientifiques de la biologie ;
- comprendre des concepts-clés qui régissent les mécanismes biologiques à l'échelle de la cellule, de la bactérie à l'être humain, en mobilisant des connaissances sur la structure et les propriétés des principales molécules du vivant ;
- s'approprier la démarche d'analyse et construire un raisonnement scientifique rigoureux ;
- formuler une hypothèse en mobilisant les concepts de biologie ;
- concevoir une expérience simple et adapter une procédure opératoire ;
- mettre en œuvre avec rigueur une procédure expérimentale et développer un regard critique sur des résultats expérimentaux afin de répondre à d'éprouver la validité d'une hypothèse ;
- développer une pensée critique, en particulier en ce qui concerne les enjeux de santé individuelle et collective ;
- développer le sens de la responsabilité par la mise en œuvre d'activités expérimentales en biotechnologies ;
- construire un raisonnement rigoureux pour justifier un choix ou une affirmation ;
- s'investir dans un projet et prendre des initiatives ;
- interagir avec ses pairs à l'aide d'une communication orale ou écrite.

## Extrait du référentiel BTS Biotechnologies

<p><b>C1- Réaliser</b></p>	<p>- Identifier par méthodes biochimiques, immunologiques, moléculaires</p> <p>- Mettre en œuvre un typage de souche</p>	<p>- Protocoles</p> <p>- Matériel de laboratoire et consommables</p> <p>- Fiches de données de sécurité</p> <p>- Equipement individuels et collectifs de sécurité</p>	<p>- Choix pertinent des milieux, réactifs, matériels et méthodes du travail rationnelle</p> <p>- Exécution correcte des ensemencements et incubations et des tests complémentaires</p> <p>- Respect des protocoles de caractérisation biochimique et de biologie moléculaire mis en œuvre</p> <p>- Etiquetage conforme des préparations réalisées</p> <p>- Qualité conforme des milieux préparés et des analyses réalisées</p> <p>- Exécution correcte d'une dilution d'agents biologiques</p> <p>- Réponse technique adaptée aux aléas de mise en œuvre</p> <p>- Respect des procédures de sécurité</p> <p>- Absence de contamination</p> <p>- Analyse critique des résultats</p> <p>- Elimination conforme des cultures et du matériel contaminé</p>
<p><b>C1-4- Mettre en œuvre des techniques en microbiologie</b></p>	<p>- Dénombrer les agents biologiques</p>	<p>- Protocoles</p> <p>- Matériel de laboratoire et consommables</p> <p>- Fiches de données de sécurité</p> <p>- Equipement individuels et collectifs de sécurité</p>	<p>- Choix pertinent des milieux, réactifs, matériels et méthodes du travail rationnelle</p> <p>- Organisation spatio-temporelle du travail rationnelle</p> <p>- Exécution correcte des ensemencements et incubations</p> <p>- Exécution correcte des isolements, des tests complémentaires</p> <p>- Relevé pertinent des indicateurs de suivi de la culture</p> <p>- Qualité conforme des milieux préparés et des analyses réalisées</p> <p>- Réponse technique adaptée aux aléas de mise en œuvre</p> <p>- Etiquetage conforme des préparations réalisées</p> <p>- Absence de contamination</p> <p>- Exécution correcte d'une dilution d'agents biologiques</p> <p>- Respect des procédures de sécurité</p> <p>- Elimination conforme des cultures et/ou du matériel utilisés</p>
	<p><b>Indicateurs de performance</b></p>	<p>- Matériels, consommables et réactifs nécessaires</p> <p>- Echantillon biologique</p> <p>- Protocoles et fiches techniques</p> <p>- Fiches de données de sécurité</p>	<p>- Exécution correcte de la technique</p> <p>- Utilisation correcte et adéquate du matériel</p> <p>- Qualité de la préparation</p> <p>- Réponse technique adaptée aux aléas de mise en œuvre</p> <p>- Respect des procédures de sécurité</p> <p>- Analyse critique de l'observation</p> <p>- Présentation correcte des résultats et conclusions</p>